

Cicatrización guiada en perros criollos con enfermedad periodontal natural

Uso de barreras de fabricación nacional

Carmen Alicia Cardozo de Martínez¹, Ramón Pereira¹

Resumen

Este estudio multietapas evaluó, mediante el empleo de membranas de fabricación nacional, la capacidad regenerativa del periodonto en perros criollos con enfermedad periodontal natural. Siguiendo el diseño experimental de boca dividida -validado por Wikesjö y colaboradores- aplicado para la arcada inferior, se tomó un lado experimental y un lado control, escogiéndose como zonas de trabajo los segundos y terceros premolares. La membrana de fabricación nacional se colocó sobre el lado experimental, cubriendo el defecto furcal, previo raspaje y alisado radicular, en tanto que sobre el defecto control no se colocó membrana, recibiendo solo raspaje y alisado radicular. Las membranas se retiraron entre la cuarta y sexta semana posimplantación.

Los resultados fueron los siguientes: 1) clínicamente, sobre los sitios experimentales, se obtuvo una ganancia promedio de inserción de 4,4 mm, mientras que sobre los controles la ganancia promedio fue de 3,6 mm; 2) en términos de porcentaje, se obtuvo una reducción promedio de 62,85% de la profundidad de los defectos sobre los sitios experimentales, en tanto que sobre los controles fue de 51,42%; 3) histométricamente, sobre el lado experimental hubo neoformación de cemento y ligamento periodontal que, en promedio, fue de 3,35 mm, lo cual correspondió a un 47,85% mientras que sobre los controles fue de 3,08 mm, que correspondió a 44%; en cuanto al hueso neoformado, el promedio fue de 2,36 mm (33,71%) para los sitios experimentales y de 1,6 mm (22,85%) para los sitios control. Histológicamente, se apreció neoformación de cemento radicular, nuevo ligamento periodontal y neoformación ósea hacia el fondo del defecto tanto en los sitios experimentales como en los sitios control; sin embargo, en promedio, la respuesta fue estadísticamente superior en los sitios con membrana. Llamó la atención la enorme variabilidad al evaluar la respuesta en forma individual, encontrándose que, en algunos de los casos con membrana, el resultado fue muy pobre mientras que en otros fue excelente; este mismo fenómeno se observó en los sitios control.

Summary

This multistage study, using nationally made membranes, evaluated periodontal regeneration capacity, in mongrel dogs with indigenous periodontal disease. Following divided mouth experimental design, as validated by Wikesjö *et al.* (102) applied to the inferior arch, an experimental and a control side were taken, choosing the second and third premolars as work zones. On the experimental side, a nationally made membrane was placed over the furcal defect, following prior scraping and root isolation; in as much as the control defect

¹ Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Santa Fe de Bogotá

had no membrane placed over it, being only scraped and the root isolated. Membranes were removed between the fourth and sixth post-implantation week. Results were as follows: 1) Clinically, an average 4.4 mm insertion gain was obtained at experimental sites, whereas the average gain at control sites was 3.6 mm. 2) On average, a 62.85% reduction in experimental defect depth was obtained, while control depth reduction was 51.42%. 3) Histometrically, there was 3.35 mm cement and periodontal ligament neoformation, corresponding to 47.85% on the experimental side, whereas an average 3.08 mm was recorded for controls, corresponding to 44%; bone neoformation average was 2.36 mm (33.71%) for experimental sites and 1.6 mm (22.85%) for control sites. Histologically, there was measurable root cement neoformation, new periodontal ligament and bony neoformation around the depth of the defect at experimental as well as control sites; however the response was statistically greater, on average, at sites with membrane. The enormous variation when evaluating individual responses attracts attention, finding that in some cases with membrane the result was very poor whereas in others it was excellent; the same phenomena being observed at control sites.

A través del tiempo, la profesión ha mostrado un gran interés por la búsqueda de procedimientos clínicos, encaminados hacia la erradicación de la enfermedad y obtención de una mejor condición tisular mediante el empleo de procedimientos periodontales de tipo quirúrgico y no quirúrgico (1-6).

Muchos investigadores han logrado evidenciar tanto clínica como histológicamente que es posible mantener un periodonto compatible con salud, comodidad y función a pesar de su reducción en altura y volumen (7). También, se han diseñado diversas modalidades de tratamiento periodontal para lograr la restauración de los tejidos periodontales destruidos por el efecto deletéreo de los microorganismos y factores humorales provenientes del huésped, implicados en la etiopatogénesis de las enfermedades periodontales (8-12).

Poco después de la mitad de siglo, la investigación clínica trascendió más allá de la erradicación de la enfermedad hasta tal punto que se despertó un gran interés por lograr una nueva inserción del tejido conectivo sobre la superficie radicular una vez que ésta fuese descontaminada y para lo cual fue necesario crear técnicas quirúrgicas que supuestamente eliminaban la totalidad del epitelio de la bolsa y permitían la íntima adhesión del tejido conectivo gingival sobre la superficie radicular biológicamente apta; entre éstas tomaron gran importancia el curetaje subgingival, el procedi-

miento excisional para lograr nueva inserción y el colgajo de Widman modificado (13-21).

Mientras esto acontecía, otros grupos proponían el empleo de diversos tipos de injertos óseos con el fin de obtener un mejor llenado óseo del defecto periodontal, además de la inserción conectiva (22-35).

Ante la evidente imposibilidad histológica de lograr una nueva inserción con procedimientos clínicos conservadores o con diferentes técnicas quirúrgicas, algunos investigadores propusieron, hacia la década pasada, el empleo de sustancias químicas tóxicas sobre las superficies radiculares, previo raspaje y alisado radicular, con el propósito de lograr nueva inserción. Este procedimiento fue acuñado en la literatura como acondicionamiento radicular, empleando ácido cítrico o clorhidrato de tetraciclina (36-53).

Para esa misma época, se propuso el empleo de proteínas extraídas del suero para colocarlas en los defectos periodontales y sobre la superficie radicular, supuestamente por el efecto quimiotáctico que éstas ejercían sobre fibroblastos, buscando su reorientación e induciendo formación de fibras fisiológicamente orientadas (54-70).

Ante los pobres resultados obtenidos con el empleo de fibronectina en humanos, las observaciones *in vitro* respecto al efecto sobre la proliferación, diferenciación y motilidad celular ejercida por los factores de crecimiento, cuando

se agregaban a los cultivos de fibroblastos, abrieron campo hacia otro frente de investigación dirigido al empleo de diferentes factores de crecimiento *in vivo*, cuyos efectos predominantemente locales podrían también permitir la regeneración del periodonto (71-74).

Los múltiples intentos por reganar tejidos tanto duros como blandos y volver casi al estado prepatológico han sido aceptados en su momento por buena parte de la profesión; sin embargo, cuando se han comparado los resultados clínicos o radiográficos con los hallazgos histológicos en modelos animales, las conclusiones no han resultado halagadoras; por el contrario, han sido contradictorias, posiblemente por la subjetividad de los parámetros clínicos. Esto ha llevado al continuo replanteamiento de las técnicas quirúrgicas empleadas y a la búsqueda de fundamentos biológicos que permitan un mejor entendimiento de los procesos que giran en torno al proceso cicatrizal y al comportamiento de los tejidos periodontales que participan en ese proceso de cicatrización.

La cicatrización periodontal es mucho más compleja que la que ocurre en la piel ya que la herida, además del tejido epitelial, cuenta con otros tejidos como el conectivo gingival, el hueso alveolar, el ligamento periodontal y una superficie rígida y avascular que, además, ha sido contaminada por toxinas bacterianas en un medio condicionado y modificado por el microambiente oral lleno de humedad, condiciones de temperatura, constituyentes humorales y electrolíticos, permanentemente en estado de cambio.

Es indiscutible que los aportes de Melcher (75) acerca del potencial de reparación o de regeneración de los tejidos periodontales fue de gran trascendencia para el entendimiento del comportamiento de cada uno de los tejidos participantes en el proceso cicatrizal, lo cual fue capitalizado conceptualmente por otros investigadores.

Se ha demostrado que el epitelio de unión tiene la capacidad de formarse nuevamente (76, 77), pero no tiene el potencial de formar un nuevo aparato de inserción. La cicatrización periodontal, a expensas del epitelio y del conectivo gingival,

tampoco permite la obtención de una nueva inserción periodontal (78, 79). El tejido óseo tampoco tiene el potencial regenerativo para permitir la creación de nueva inserción (80).

La mayor potencialidad regenerativa se le ha atribuido al ligamento periodontal; muchos autores han señalado que las células provenientes del ligamento periodontal tienen la capacidad de formar nuevo cemento radicular, hueso alveolar y ligamento periodontal (76).

Gracias a los estudios de Melcher, de quienes le siguieron acerca del potencial regenerativo de los tejidos periodontales, se llegó a la conclusión de que era necesario excluir durante el proceso cicatrizal todos aquellos tejidos periodontales que no tienen capacidad pluripotencial para diferenciarse hacia células formadoras de cemento radicular, hueso alveolar y ligamento periodontal. Bajo este principio biológico, Nyman y col. en 1982 (81), se apropiaron del principio mecánico propu-esto hace más de tres décadas en algunos estudios sobre regeneración ósea, en los que emplearon filtros de miliporo para controlar la participación de los elementos celulares provenientes del tejido conectivo durante el proceso cicatrizal (82).

El estudio de Nyman, realizado en primates, en 1982, demostró la formación de una nueva inserción conectiva, después de excluir mecánicamente el conectivo y epitelio gingival, lo cual abrió las puertas de la regeneración tisular guiada como tecnología de punta dirigida hacia la regeneración periodontal. A este estudio le siguieron los de Gottlow y col. en 1984 (83), que demostraron en primates la nueva formación de cemento con nuevas fibras conectivas insertadas y una discreta formación de hueso alveolar. Estos resultados también fueron confirmados por otros trabajos en los que se emplearon diferentes modelos animales, tipos de membranas y tipos de defectos periodontales, sugiriendo que la nueva inserción se podía obtener sobre superficies radiculares previamente expuestas a la placa bacteriana (84-95).

La posibilidad de lograr nueva inserción conectiva, apelando al empleo de barreras, generó la aparición de laboratorios que se dedicaron a la

búsqueda de materiales para crear y diseñar membranas que fueran biocompatibles y estables tanto física como químicamente, para el caso de las de tipo no reabsorbibles, o que bioquímicamente pudieran ser degradadas por el huésped en las etapas tardías del proceso cicatrizal, cuando se trataba de las reabsorbibles. El material que más acogida tuvo y que fue aceptado por la FDA, fue el politetrafluoretileno expandido, fabricado por la casa Gore-Tex, y que ya antes había superado las pruebas de citotoxicidad, biocompatibilidad y teratogenicidad, para poder ser empleado en prótesis vasculares (96-99). En Colombia, se ha iniciado el proceso de fabricación de membranas las cuales, a pesar de que muchos profesionales las han utilizado ya en pacientes humanos, no han tenido el análisis suficiente y adecuado de acuerdo con las normas establecidas a nivel internacional para el cumplimiento de los requerimientos de calidad total.

Materiales y métodos

Esta publicación corresponde a un capítulo de un estudio multietapas el cual contempló la observación y determinación cualitativa de la constitución química de una membrana de fabricación nacional la cual se sometió a pruebas de citotoxicidad *in vitro* sobre cultivo primario de fibroblastos, pruebas de biocompatibilidad mediante implantación subcutánea en una cepa isogénica de ratones (resultados aparecidos en publicaciones previas), alergenidad o no *in vivo* y, por último, observación del potencial regenerativo en defectos furcales en perros criollos, empleando la membrana, de tal manera que permitiera excluir el epitelio y conectivo gingival, previo raspaje y alisado de las superficies radiculares afectadas por enfermedad periodontal.

Se tomaron seis caninos criollos jóvenes (cuatro machos y dos hembras) los cuales, inicialmente, fueron sometidos a valoración médica general por parte de un médico veterinario de la Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia; se incluyó un examen clínico minucioso por sistemas, peso, talla y cuadro hemático. Pese a lo anterior, tardíamente se encontró que una de las hembras se encontraba preñada, motivo que fue suficiente para excluirla del estudio en una etapa avanzada del mismo.

Se sometieron también a un proceso de desparasitación y vacunación antirrábica para, luego, ser llevados a jaulas. Dado que las instalaciones para el albergue de estos animales en el momento no permitían un control riguroso de la temperatura y humedad fueron mantenidos en las condiciones ambientales del sitio geográfico de la investigación. A partir de ese momento, se inició dieta a base de concentrado efectuando observación diaria.

Todos los procedimientos, desde la valoración oral, fueron realizados bajo anestesia general por un equipo médico veterinario de la siguiente manera: 1) preanestesia con xylazine a una dosis de 1 mg/kg de peso más atropina 0,044 mg/kg, vía IV; 2) anestesia inducida y mantenida a efecto con tiopental sódico 15 mg/kg. Los caninos fueron intubados y se colocó un abre bocas del diente canino superior al canino inferior con el fin de tener acceso y visibilidad adecuados. Inicialmente, se registraron todas las medidas en cuanto a estado clínico de los tejidos y de inserción clínica acorde con los protocolos establecidos para el fin por Wikesjö y colaboradores (106), los cuales han sido asumidos a la fecha como válidos a nivel internacional para todos los estudios de este tipo.

Todos los animales fueron sometidos a una etapa de terapia básica inicial consistente en la eliminación de irritantes locales a través del raspaje, alisado y pulido coronal. A las cuatro semanas, se realizó la revaluación y seguidamente se realizó una exploración quirúrgica de los defectos óseos, definiendo entonces aquellos que no lo estuvieran suficientemente desarrollados como consecuencia de la misma enfermedad. Este procedimiento se realizó con ayuda de fresas quirúrgicas y cinceles; se permitió, entonces, que se acumulara mayor cantidad de placa durante cuatro semanas más, a través de la anudación de seda dental en los cuellos de los dientes y suprimiendo todas las medidas de higiene oral. Al cabo de éstas cuatro semanas, se retiraron los anillos de seda e inmediatamente los animales fueron sometidos a una higiene oral diaria por parte de auxiliares, ayudados de aplicación tópica de clorhexidina, realizando igualmente una profilaxis semanal con el fin de consolidar la cicatrización de los tejidos blandos.

A las cuatro semanas y a nivel del segundo, tercero y cuatro premolares inferiores derechos e izquierdos (pm2, pm3, pm4) y con base en los procedimientos que se describen a continuación se tomaron las siguientes medidas:

- LAC-Co: medida de la línea amelocementaria a la cresta ósea;
- PFh: medida de la zona furcal en sentido horizontal;
- PFv: medida de la zona furcal en sentido vertical.

Se empezó en el lado control; con un bisturí Bard Parker, hoja 15, se levantó un colgajo completo vestibular; se raspó y alisó la superficie radicular con curetas de Gracey 7-8, 11-12 y 13-14; se eliminó todo el tejido de granulación cureteando el área furcal y lavando con solución salina constantemente. Una vez se limpió correctamente la zona, se infiltró con xilocaína con epinefrina 1:80.000 con el objeto de lograr mejor vasoconstricción para mayor visibilidad y se procedió a realizar a nivel vestibular una muesca sobre las superficies radiculares siguiendo el contorno de la cresta ósea. Posteriormente, se hicieron mediciones basales de tal forma que, en sentido vertical, se tomó la distancia de línea amelocementaria hasta la posición más coronal de la cresta ósea en tres puntos: mesial, distal y medial o vestibular (LAC-Co); siguiendo el vértice furcal, se tomó la distancia desde la línea amelocementaria en sentido vertical hasta el sitio más profundo en el defecto (PFv). También se midió la profundidad del compromiso furcal en sentido horizontal en la superficie vestibular colocando tangencialmente a la superficie radicular una sonda que sirviera de apoyo para que, en sentido horizontal y en dirección perpendicular a ésta, se introdujera otra sonda (sonda milimetrada de Williams) registrando la distancia recorrida hasta el fondo (describiendo un (+)) (PFh).

Luego, se reposicionaron coronalmente los colgajos suturándolos con vicril 4/0. En la misma sesión, se efectuaron los procedimientos del lado experimental en el que, además de los pasos antes señalados, se colocó una membrana de fabricación nacional y se suturó con vicril 5/0 alrededor del diente, cubriendo el área furcal y extendiéndose tres a cuatro milímetros más allá de los contornos del defecto. Luego, se reposicionó coronalmente

el colgajo cuidando de cubrir totalmente la membrana. Durante el posoperatorio, los animales fueron monitorizados cuidadosamente; el dolor se controló con analgésicos y, posteriormente, fueron llevados a sus jaulas en donde a partir del momento y por un período de dos semanas recibieron dieta blanda de concentrado humedecido. Diariamente, además del control, con un sistema de aerosol se aplicaba tópicamente gluconato de clorhexidina al 2% para controlar la placa. Estos procedimientos fueron realizados por veterinarios entrenados y con entrenamiento previo en la estandarización en todos los procedimientos.

La reentrada quirúrgica se realizó de tal forma que dos animales por sesión fueron sometidos a este procedimiento a las cuatro, cinco, seis, siete y ocho semanas, con el objeto de retirar la membrana y tomar nuevamente las mediciones clínicas finales: aspecto, color, forma, consistencia. Este procedimiento consistió en el levantamiento del colgajo completo en el lado experimental y en el control. Se retiró la membrana en el lado experimental y se registraron mediciones en forma similar a las basales, las que hemos denominado mediciones de reentrada. Se posicionaron coronalmente los colgajos y se suturaron con vicril. A partir de este momento, los animales fueron sometidos a dieta blanda (concentrado humedecido), control diario de higiene oral y aplicación en aerosol de digluconato de clorhexidina al 2%, interdiario, hasta el momento del sacrificio.

Dos animales fueron sacrificados a las seis semanas y los otros tres a las ocho semanas.

Para el sacrificio se empleó tiopental sódico concentrado y efedrina inyectada en la vena cefálica y, una vez que se comprobó ausencia total de signos vitales, se procedió a la resección del fragmento mandibular tanto experimental como control practicando una incisión en el surco vestibular separando la piel y seccionando a nivel de la sínfisis mandibular y por detrás del segundo molar.

Los fragmentos fueron lavados con agua bidestilada y colocados en formalina al 10% durante un mes para ser llevados posteriormente a un proceso lento de descalcificación en ácido fórmico, el cual fue evaluado semanalmente a través de toma de

radiografías comparativas en placas de tórax donde los ejemplares eran colocados simultáneamente y en las mismas posiciones, observando cuidadosamente el grado de radioopacidad traducido como grado de calcificación clínica. Una vez que la radiografía mostraba desaparición de focos de calcificación, los especímenes fueron lavados con agua bidestilada y se procedió a hacer corte con bisturí para reducir el tamaño del segmento tanto en longitud como en espesor. Luego, se colocaron en bloques de parafina para ser llevados al micrótom.

De cada bloque, se tomaron 10 cortes seriados los cuales se llevaron a una lámina portaobjeto para ser sometidos al proceso de coloración selectiva. Esta se hizo en forma alterna de tal forma que la primera es hematoxilina-eosina, seguida por tricómico, nuevamente HE, tricómico y la quinta pentacrómico o movat.

Seguidamente, se hizo una lectura morfológica de cada espécimen por parte de un patólogo oral.

Resultados clínicos

Los resultados clínicos se describen en el cuadro 1, los cuales corresponden a las mediciones tomadas en el momento de implantación de las membranas y al retirar las mismas durante la reentrada quirúrgica, una semana antes del sacrificio de cada animal. Las mediciones iniciales tanto para los sitios experimentales como para los controles, fueron los siguientes: distancia promedio desde la línea amelocementaria (LAC) a la cresta ósea (CO) igual a 5 mm, y desde LAC al fondo del defecto (FD), 7 mm.

Clínicamente, desde el punto de vista cualitativo, la reentrada quirúrgica permitió evidenciar en los

sitios experimentales, la presencia de un tejido de color rojo semejante al tejido de granulación, mientras que, en los sitios control, era menos rojo y aparentemente más firme y fibroso. En lo cuantitativo, durante la reentrada, se observó que no se obtuvo llenado completo de los defectos furcales tanto en los sitios experimentales como en los sitios control (cuadro 2). Las mediciones correspondientes a la reentrada quirúrgica fueron, en promedio, las siguientes: en los sitios experimentales, la distancia desde LAC a la parte más coronal del tejido regenerado (RG) igual a 2,6 mm, de tal manera que se obtuvo un RG igual a 4,4 mm y, en los sitios control, la distancia desde LAC a RG fue igual a 3,4 mm, lo que quiere decir que se obtuvo 3,6 mm de tejido regenerado. En términos de porcentaje, en los sitios experimentales se obtuvo en promedio 62,85% de RG; y, en esa misma magnitud, se redujo la profundidad promedio de los defectos. Sobre los sitios control, se obtuvo un promedio de 48,57% de RG y, en esa misma magnitud, se redujo la profundidad promedio de los defectos.

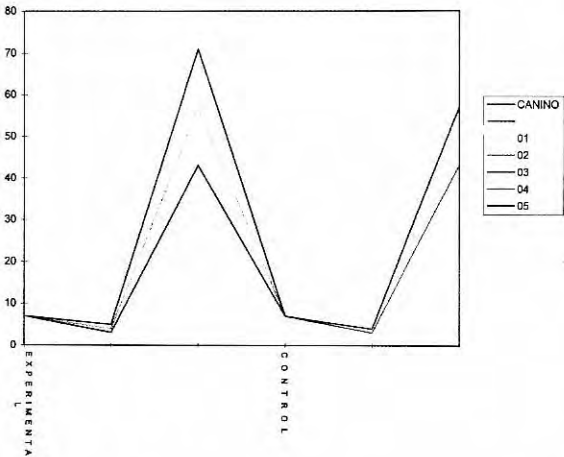
El cuadro 2 también permite apreciar los resultados clínicos de manera individual. Se señala en ese cuadro que no hubo uniformidad en los resultados, de tal manera que la cantidad de tejido neoformado fue diferente en cada animal, tanto para los sitios experimentales como para los sitios control. La mayor cantidad de tejido regenerado se presentó en los animales O2, O4 y O5, en tanto que los más pobres se presentaron en los perros O1 y O3.

Histológicos

Los cuadros 2, 3 y 4 muestran los resultados histológicamente cuantitativos. En cuanto al

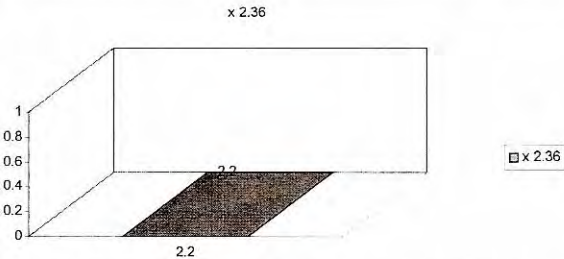
Cuadro 1. Resultados clínicos.

Canino inicial	Experimental			Control		
	PFv m m	Ganancia %	Ganancia inicial	PFv m m	Ganancia %	Ganancia inicial
O1	7	4	57	7	3	43
O2	7	5	71	7	3	43
O3	7	3	43	7	4	57
O4	7	5	71	7	4	57
O5	7	5	71	7	4	57
X	7	4,4	63	7	3,6	51



Cuadro 2. Mediciones histométricas correspondientes al hueso.

	Experimental	Control
P1	2,9	2,2
P2	1,92	1,8
P3	1,63	0,95
P4	1,7	0,95
P5	3,22	2,16
x	2,36	1,6



cemento radicular y del ligamento periodontal, se obtuvo una ganancia promedio de 3,35 mm sobre los sitios experimentales que corresponde a 47,85%, mientras que, en los controles, la ganancia promedio fue de 3,08 mm que corresponden a 44%.

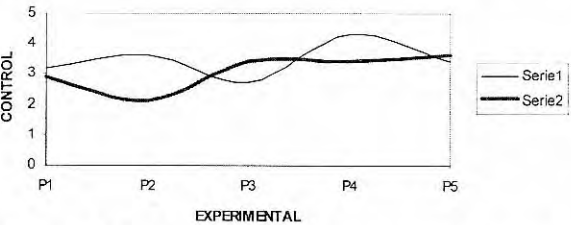
El hueso alveolar fue el que evidenció menor respuesta. Sobre los sitios experimentales, la ganancia promedio fue de 2,36 mm (33,71%), en tanto que, sobre los sitios control, fue de 1,6 mm (22,85%).

Discusión

Clínicamente se observó que, en apariencia, hubo llenado de los defectos en forma muy similar en

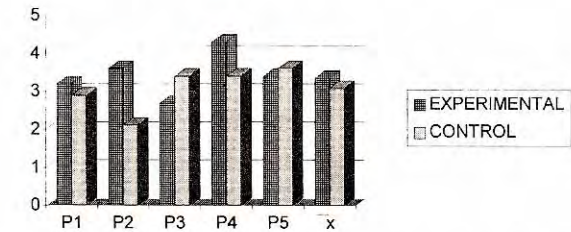
Cuadro 3. Mediciones histométricas correspondientes a cemento radicular.

	Experimental	Control
P1	3,2	2,9
P2	3,6	2,11
P3	2,7	3,4
P4	4,3	3,4
P5	3,4	3,6
x	3,35	3,0



Cuadro 4. Mediciones histométricas correspondientes de ligamento periodontal.

	Experimental	Control
P1	3,2	2,9
P2	3,6	2,11
P3	2,7	3,4
P4	4,3	3,4
P5	3,4	3,6
x	3,35	3,08



los especímenes, independientemente de la permanencia de las membranas en los sitios, lo cual confirma el hecho informado por otros trabajos en los que se señala que el mayor crecimiento de tejido ocurre hasta la cuarta semana (59); y, luego, lo que ocurre es un proceso de maduración tisular. Esto justifica el que se hubiera optado por retirar las membranas a partir de la cuarta semana (85, 89, 92, 95, 100, 101, 103).

Se pudo evidenciar que el tiempo de permanencia de las membranas no fue aparentemente crítico para el análisis de los resultados tanto cuantitativos clínicos como histométricos. Este

mismo hecho fue informado previamente por Caffesse y colaboradores en 1988, quienes no encontraron diferencias significativas entre los especímenes que se removieron a la cuarta semana y aquéllos que fueron removidos a la octava y décima semana (88).

Clínicamente, en ninguno de los especímenes se obtuvo regeneración completa de los defectos furcales, lo cual contrasta con otros estudios donde se señala un llenado completo de furcas, tal como lo informa Caffese en 1996. El llenado incompleto de los defectos también fue evidenciado histológicamente en este mismo estudio, en donde se observó que ninguno de los tejidos participantes durante el proceso cicatrizal logró responder en un 100% de neoformación. Este hecho se puede explicar posiblemente porque, a diferencia de otros estudios, la muestra de éste correspondía a sitios con enfermedad periodontal natural, que podría ser una limitante, por cuanto la *contaminación previa del cemento radicular* puede ser un factor determinante tanto en la calidad como la cantidad de regeneración periodontal obtenida (85, 102). Es más, esta dificultad era más notoria hacia la parte coronal, ya que el fondo de los defectos requirió preparación para definir los defectos. Por otro lado, la cantidad de llenado no solo está supeditada al tamaño de los defectos y la cantidad de ligamento periodontal remanente sino que, además, se ha informado que la prematura diferenciación de los cemento-blastos interfiere con una mayor proliferación celular desde el ligamento periodontal, reduciendo así la capacidad regenerativa cuantitativa de éste (85, 100).

Se obtuvo una ganancia de inserción que, en promedio, fue de 3,35 mm, muy similar al informe de Aukhil y colaboradores (85), la cual fue de 2,94 mm empleando como modelo experimental el perro Beagle con enfermedad periodontal natural. Sin embargo, hay que resaltar que, a diferencia de este estudio, allí se empleó una membrana de silicona recubierta por colágeno que era totalmente diferente a la aquí empleada.

En términos de porcentaje, también se encuentra similitud con los resultados obtenidos por Magnusson y colaboradores (89) quienes

informaron que, en promedio, el nuevo cemento y ligamento formado correspondió a 45% en los sitios experimentales, mientras en este estudio fue de 47,85%; la diferencia está en que, en el estudio mencionado, se trabajó sobre defectos creados artificialmente.

Desde el punto de vista histológico, se observó que la neoformación de hueso fue inferior a la de ligamento periodontal y cemento radicular; el nuevo hueso promedio fue de 33,71%. Esto coincide igualmente con los estudios e informes de Magnusson quienes también encontraron que el nuevo hueso ganado fue de 39% y fue inferior al porcentaje de neoformación de ligamento periodontal y cemento radicular.

Otro hecho importante a considerar es el que a diferencia de la mayoría de los estudios, en éste se empleó una membrana de diseño particular con características no ideales en cuanto a tamaño de la trama, perforaciones frecuentes, carencia de zona oclusiva, factores que, según estudios previos y de acuerdo con la revisión aquí presentada, son fundamentales para que cumplan con su objetivo (104, 105). Por un lado, de actuar como verdadera barrera selectiva entre dos tejidos (la existencia de irregularidades y porosidades permite no solamente el paso de fluidos y factores de crecimiento sino la migración de células a través de ellas). La falta de la zona oclusiva favorece o permite la migración epitelial que es totalmente *indeseable en las primeras etapas del proceso de cicatrización*. Estos hallazgos fueron descritos en las publicaciones previas a la presente con relación a la evaluación de la membrana a través de estereoscopio, microscopio invertido, análisis citotóxico y estudios de biocompatibilidad.

Otro hecho importante de resaltar fue la enorme variabilidad en la respuesta cuando la miramos de manera individual. Si se observan los cuadros 3, 4 y 5, podemos notar que, en algunos especímenes, la neoformación de cemento y ligamento periodontal fue buena, en tanto que, en otros, los resultados fueron muy pobres. Esto se puede explicar posiblemente por el hecho de que no se contó con un modelo animal canino isogénico, y, por tanto, la *variabilidad biológica individual* era un hecho preponderante en la

respuesta, en contraste con la apreciación. Podemos decir que la mayoría de los estudios informan promedios relativamente altos que camuflan los resultados pobres, dándoles una predecibilidad virtual aparentemente buena, lo cual contrasta con la mayoría de informes en humanos, donde se señalan resultados que van desde lo satisfactorio hasta lo indeseable. Por esta razón, para nosotros este hallazgo es de suma importancia y consideramos que los resultados obtenidos en los modelos tradicionalmente empleados no son totalmente extrapolables a humanos, debido no solamente a las condiciones propias de los estudios, sino al hecho de no superar las barreras de especie ni de variabilidad biológica.

En este estudio, al comparar los resultados obtenidos entre los sitios experimentales y, luego, entre los controles, observamos que la respuesta fue mejor en algunos animales independientemente del tipo de tratamiento realizado, ya sea con membrana o sin membrana, indicándonos, para este caso en particular, que más que la técnica, la calidad individual de la respuesta, constituye un hecho importante.

Los análisis y estudios previos demuestran de manera exhaustiva que el principio biológico de la técnica es válido, la proyección que debe dar en este momento la periodoncia debe estar orientada fundamentalmente al análisis biomolecular del fenómeno y la búsqueda de alternativas clínicas que permitan que el llenado sea total en todos los casos indicados, que el tejido se consolide y permanezca. Tal vez, la búsqueda de señales, el análisis individual e interactivo de factores de crecimiento permita modificar el procedimiento clínico hasta ahora empleado.

Agradecimientos

Al doctor Carlos Nasjletii (q.e.p.d.), profesor de la Universidad de Texas en Houston quien nos asesoró y acompañó durante la realización de este proyecto; a la doctora Elena Jaramillo Uribe, profesora de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional, a Colciencias y a la Universidad Nacional.

Referencias

1. **Stillman PR.** The management of pyorrhea alveolaris. *Dental Cosmos* 1917;59:405.
2. **Hirschfield L, Wasserman B.** A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *J Periodontol* 1978;49:225.
3. **McFall WF.** Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease: a long term study. *J Periodontol* 1983;53:539.
4. **Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky S, Haffaje.** Long-term effect of surgical, nonsurgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984;11:448.
5. **Philstrom BL, Mchugh RB, Oliphant TH, Ortiz-Campos C.** Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6 ½ years. *J Periodontol* 1983;10:524-41.
6. **Allen D, Caffesse R.** Comparison of results following modified Widman flap surgery with and without surgical dressing. *J Periodontol* 1983;8:470-5.
7. **Zander HA, Polson AM, Heijl CD.** Goals of periodontal therapy. *J Periodontol* 1976;47:261.
8. **Beube FE.** A radiographic and histologic study on reattachment. *J Periodontol* 1952;23:158.
9. **Sullivan C, Dragoo MR.** Regenerative techniques in periodontal therapy. *Dental Clin North America* 1976;20:131.
10. **Burgett FG, Knowles J, Nissle RR, Shic R, Ramfjord SP.** Short-term results for three modalities of periodontal treatment. *J Periodontol* 1977;48:131-5.
11. **Hill RW, Ramfjord SP, Morrison EC, Appleberry, EA, Caffesse RG, Kerry GJ, Nissle RR.** Four types of periodontal treatment compared over two years. *J Periodontol* 1981;52:655-62.
12. **Zamet JS.** A comparative clinical study of three periodontal surgical techniques. *J Clin Periodontol* 1975;2:87-97.
13. **Goldman Y.** A rationale for the rationales for the treatment of the intrabody pocket: one method of treatment subgingival curettage. *J Periodontol* 1949; 20:83-91.
14. **Carranza FA.** A technique for reattachment. *J Periodontol* 1954;25:272-7.
15. **Ramfjord SP, Nissle RR.** The modified Widman flap. *J Periodontol* 1974;45:601-7.
16. **Wade AB.** The flap operation. *J Periodontol* 1966; 37:95-9.

17. **Ellegard B, Loe H.** New attachment of periodontal tissues after treatment of infrabony lesions. *J Periodontol* 1971;42:648-52.
18. **Wirthlin MR.** The current status of new attachment therapy. *J. Periodontol* 1981;52:529-44.
19. **Cole RT, Crigger M, Bogle G, Egelberg J, Selvig KA.** Connective tissue regenerative to periodontally diseased teeth. A longitudinal study. *J Periodontol Res* 1980;15:1-9.
20. **Yukna RA.** A clinical and histologic study of healing following the excisional new attachment procedure in Rhesus monkeys. *J Periodontol* 1976;47:701-9.
21. **Yukna RA.** The clinical study of healing in humans following the excisional new attachment procedure. *J Periodontol* 1976;696-700.
22. **Froum SJ, Ortiz M, Witkin RT, Thaler R, Scopp IW, Sathl SS.** Osseous autographs. III. Comparison of osseous coagulum-bone blend implants with open curettage. *J Periodontol* 1976;47:287-94.
23. **Ellegard B, Nielsen IM, Karring T.** Composite jaw and iliac cancellous bone grafts in intrabody defects in monkeys. *J Periodontol Res* 1976;11:299-310.
24. **Melloning JT.** Decalcified freeze-dried bone allograft as an implant material in human periodontal defects. *J Periodont Restaurat Dent* 1984;4:41-55.
25. **Bowen JA, Melloning JT, Gray JL, Towle HT.** Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hidroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989;4:41-55.
26. **Rummelhart JM, Melloning JT, Gray JL, Towle HJ.** Comparison of freezedried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989; 60:655-63.
27. **Egelberg J.** Regeneration and repair of periodontal tissues. *J Periodontol Res* 1987;22:233-42.
28. **Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W.** Iliac transplants in periodontal therapy. *J Periodontol* 1970;566-80.
29. **Schallhorn RG, Hiatt WH.** Human allografts of iliac cancellous bone and marrow in periodontal osseous defects. II. Clinical observations. *J Periodontol* 1972; 43:67-81.
30. **Schallhorn RG.** Present status of osseous grafting procedures. *J Periodontol* 1977;48:570-6.
31. **Robinson RE.** Osseous coagulum for bone induction. *J Periodontol* 1969;40:503-10.
32. **Rosenberg MM.** Free osseous tissue autographs as a predictable procedure. *J Periodontol* 1971;42:195-209.
33. **Nabers CL, O'leary TJ.** Autogenous bone bone transplants in the treatment of osseous defects. *J Periodontol* 1965;36:5-14.
34. **Hiatt WH, Schallhorn RG.** Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J Periodontol* 1973;44:194-208.
35. **Burnette EW.** Fate of an iliac crest graft. *J Periodontol* 1972;43:88-90.
36. **Register AA, Burdik FA.** Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin demineralized in situ defect repair. *J Periodontol* 1976;47:497.
37. **Polson AM, Landenhien S, Hanes PJ.** Cell and fiber attachment on demineralized dentin from periodontitis affected root surfaces. *J Periodontol* 1986;57:235.
38. **Cole RT, Crigger M, Bogle G, Egelberg J, Selvig KA.** Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. *J Periodontal Res* 1980;15:1-9.
39. **Nilveus R, Bogle G, Crigger M, Egelberg J, Selvig K.** The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. II. Healing after repeated surgery. *J Periodontol Res* 1980;15:544-50.
40. **Renvert S, Egelberg J.** Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effects of osseous grafting and citric and conditioning. *J Clin Periodontol* 1981;12:441-55.
41. **Aabair WB, Cobb CM, Killoy WJ.** Connective tissue attachment to periodontology diseased roots after citric acid demineralization. *J Periodontol* 1982;53:515-26.
42. **Pettersson EC, Aukhil Y.** Citric acid conditioning of roots affects guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodontol Res* 1986;21:543-52.
43. **Wikesjo UME, Claffey N, Christersson LA, Franzetti LC, Genco RJ, Terranova VP, Terranova VP, Egelberg J.** Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and tropical fibronectin application. *J Clin Periodontol* 1988;15:73-80.
44. **Martin M, Gantes, Garrett S, Egelberg J.** Treatment of periodontal furcation (Y). Review of the literature and description of regenerative surgical technique. *J Clin Periodontol* 1988;15:227-33.
45. **Baker P, Evans R, CoburnR, Genco, RJ.** Tetracycline and its derivates strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983;54:580-5.
46. **Bjorvant K, Skaug N, Selvig KA.** Inhibition of bacterial growth by tetracycline-impregnated enamel and dentin. *J Dental Res* 1984;92:508-16.
47. **Walker C, Pappas J, Tyler K, Cohen S, Gordon J.** Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria: in

- vitro susceptibilities of periodontal bacteria: in vitro susceptibilities to eighth antimicrobial agents. *J Periodontol* 1985;56:67-74.
48. **Golub LM, Wolff M, Lee HM, McNamara TF, Ramamurthy NS, Zambon J, Ciancio S.** Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human cervicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodontol Res* 1985;20:12-23.
49. **Terranova VP, Franzrtti LC, HIC S, Diflorio RM, Lyall RM, Wikesjo UME, BakerPJ, Christersson LA, Genco RJ.** A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodontol Res* 1986;21:330-7.
50. **Somerman MJ, Foster RA, Vorsteg GM, Progebin K, Wynn RL.** Effects of minocycline on fibroblast attachment and spreadin. *J Periodontol Res* 1988;23: 154-9.
51. **Wikesjo UME, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall R, Hic S, Diflorio RM, Terranova VP.** A biochemical approach to periodontal regeneration. Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontol Res* 1986;21:322-9.
52. **Frantz B, Polson A.** Tissue interactions with dentin specimenes after demineralization using tetracycline. *J Periodontol* 1988;59:714-21.
53. **Wikesjo UMA, Claffey N, Chistersson LA, Franzatti LC, Genco RJ, Terranova VP, Egelberg J.** Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application. *J Clin Periodontol* 1988;15:73-80.
54. **Pearlstein E.** Plasma membrane glycoprotein wich mediates adhesion of fibroblasts to collagen. *Nature* 1976;262:497-500.
55. **Ali IU, Mautner V, Lanza R, Hynes RO.** Restoration of normal morphology, adhesion and cytoskeleton in transformed sensitive surface protein. *Cell* 1977; 11:115-26.
56. **Kleinman H, Klebe R, Martin G.** Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *J Cell Biology* 1981;88:473-85.
57. **Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S.** Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest* 1980;43:47-51.
58. **Bitterman PB, Rennard SI, AdelbergS, Crystal RG.** Role of fibronectin as a growth factor for fibroblasts. *J Cell Biology* 1983;97:1925-32.
59. **Terranova VP, Martin GR.** Molecular factors determining gingival tissue interaction with structure. *J Periodontol Res* 1982;17:530-3.
60. **Nasjleti CE, Caffesse RG, Castelli WA, Lopatin DE, Kowalski.** Effect of lyophilized autologous plasma on periodontal healing of replanted teeth. *J Periodontol* 1986;57:568-78.
61. **Nasjleti CE, Caffesse RG, Castelli WA, Lopatin DE, Kowalski CJ.** Effect of fibronectin on healing of replanted teeth in mokeys: a histologic and autoradiographic study. *Oral Surg* 1987;63:291-9.
62. **Caffesse RG, Holden MJ, Kon S, Nnasjletti CE.** The effect of citric acid fibronectin application on healing following surgical treatment of naturally occurring periodontal disease in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1985;12:578-90.
63. **Caffesse RG, Smith BS, Nasjletti CE, Lopatin DE.** Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application. *J Periodontol* 1987;58:661-6.
64. **Weiss R, Reddi AH.** Role of fibronectin in collagenous matrix induced mesenchimal cell proliferation and differentiation in vivo. *Experiment Cell Res* 1981;133:247-54.
65. **Ffernyhough W, Page RC.** Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots. *J Periodontol* 1983;54:133-40.
66. **Wikesjo UME, Baker PJ, Cristersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, Diflorio RM, Terranova VP.** A biochemical approach to periodontal regeneration. Tetracycline treatment condition dentin surfaces. *J Periodontol Res* 1986;21:322-9.
67. **Smith BA, Smith JS, Caffesse RG, Nasjleti CE, Lopatin DE, Kowalski CJ.** Effect of citric acid and various concentrations of fibronectin on healing following periodontal flap surgery in dogs. *J Periodontol* 1987;58:667-73.
68. **Smith BA, Caffesse RG, Nasjleti CE, Kon S.** Effects of citric acid fibronectin and kaminin application in treating periodontics. *J Clin Periodontol* 1987;14:396-402.
69. **Caffesse RG, Kerry GJ, Chaves ES, McLean TN, Morrison EC, Lopatin DE, Caffesse ER, Stults DL.** Clinical evaluation on the use of citric acid and autolo-gous fibronectin in periodontal surgery. *J Periodontol* 1988;59:565-9.
70. **Peltzman B, Bowers GM, Reddi AH, Berquist JJ.** Treatment of furcation involvements with fibronectin

- and intraoral autogenous bone grafts: preliminary observations. *Internat J Periodontics Restaurat Dentistry* 1988;5:51-63.
71. **Terranova VP, Wikesjo UME.** Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cell of the periodontium. A review. *J Periodontol* 1987;58:371-80.
 72. **Wirthlin MR.** Growth substances: potential use in periodontics. *J Western Soc Periodontol/Periodontal Abstracts* 1989;37:101-26.
 73. **Terranova VP, Odziemiec C, Tweden KS, Spadone DP.** Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells: effect of basic fibroblast growth. *J Periodontol* 1989;60:293-301.
 74. **Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniadis HN.** A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989;16:545-8.
 75. **Melcher AH.** On the repair of periodontal tissue. *J Periodontol* 1976;47:258.
 76. **Litsgarten MA.** Electron microscopic features of the newly formed epithelial attachment after gingival surgery. *J Periodontol Res* 1967;2:46.
 77. **Takata, Nikai H, Ijuhn N, Okomoto H.** Ultrastructure of regenerated junctional epithelium after surgery of rat molar gingiva. *J Periodontol* 1986;57:776.
 78. **Nyman S, Karring T, Lindhe J, Planted S.** Healing following implantation of periodontitis affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7:394-401.
 79. **Caton J, Nyman J, Zander H.** Histometric evaluation of periodontal surgery. *J Clin Periodontol* 1980;7:224-31.
 80. **Karring T, Nyman S, Lindhe J.** Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7:96-105.
 81. **Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J.** The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol* 1982;9:257-65.
 82. **Hurley FE, Stinchfield AL, Basset.** The role of soft tissues in osteogenesis. An experimental study of canine spine fusions. *J Bone Joint Surg* 1959;41-A, 1243-54.
 83. **Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J.** New attachment formation as a result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1984;11:494.
 84. **Magnusson Y, Nyman S, Karring T, Egelberg J.** Connective tissue attachment formation following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing. *J Periodontol Res* 1985;20:201-8.
 85. **Aukhil, Pettersson E, Suggs C.** Guided tissue regeneration. An experimental procedure in beagle dogs. *J Periodontol* 1986;57:727-34.
 86. **Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Grosskopf A, Noff N.** Collagen membranes prevent the apical migration of epithelium during periodontal wound healing. *J Periodontol Res* 1987;22:331-3.
 87. **Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Grosskopf A, Noff N.** Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine. *J Periodontol* 1988;59:380-6.
 88. **Caffesse RG, Smith BA, Castelli WA, Nasjleti CE.** New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. *J Periodontol* 1988;59:589-4.
 89. **Magnusson Y, Batich C, Collins BR.** New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. *J Periodontol* 1988;59:1-6.
 90. **Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Noff M.** Collagen membranes prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs. *J Periodontol Res* 1989;24:247-53.
 91. **Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nnasjleti CE.** New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs international. *J Periodontitis Restorat Dentistry* 1989;1:59-69.
 92. **Caffesse RG, Dominguez LE, Nasjleti CE, Castelli WA, Morrison EC, Smith BA.** Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1990;61:45-50.
 93. **Pontoriero R, Nyman S, Ericsson Y, Lindhe J.** Guided tissue regeneration in surgically furcation defects. An experimental study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 1992;19:159-63.
 94. **Haney JM, Nilveus RE, Mcmillan PJ, Wikesjo UME.** Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *J Periodontol* 1993;64:883-90.
 95. **Matsuura M, Herr Y, Han KY, Lin WL, Genco R, Cho MI.** Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. *J Periodontol* 1995;66:579-93.
 96. **Winter G.** Transcutaneous implant: reactions of the skin implant interfase. *J Biomed Materials Res* 1.74:5-99.

97. **Lidman DH, Faibisoff B, Daniel RK.** Expanded polytetrafluoroethylene as a microvascular graft: an experimental study. *J Microsurgery* 1980;1:447.
98. **Watanabe K.** Microarterial prostheses of expanded polytetrafluoroethylene. *J Microsurgery* 1980;2:11.
99. **Tizian C, Demuth RJ, Glass KD.** Evaluation of microvascular prosthesis of microporous polytetrafluoroethylene. *J Surgery Res* 1981;30:159.
100. **Masato M.** A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1991; 62:171-9.
101. **Sander L, Karring T.** Healing of periodontal lesions in monkeys following the guided tissue regeneration procedure. A histologic study. *J Clin Periodontol* 1995; 22:332-7.
102. **Haney JM, Zimmerman GJ, Wikesjö ULF.** Periodontal repair in dogs: evaluation of the natural disease model. *J Clin Periodontol* 1995;22:207-13.
103. **Caffesse RG, Nasjletti CE, Anderson GB, Lopatin DE, Smith B, Morrison E.** *J Periodontol* 1991;62:21-9.
104. **Scantlebury TV.** 1982-1982: A Decade of Technology Development for Guided Tissue Regeneration. *J. Perio* 1993;64:1129-37.
105. **Hardwick R, Hayes BK, Flynn Ch.** Devices for dentoalveolar regeneration: an up to date literature review. *Western J Periodontol* 1995;55:495-505.
106. **Wikesjö UME, Selvig KA, Zimmerman NR.** Periodontal repair in dogs: healing in experimentally created chronic periodontal defects. *J Periodontol* 1991;Apr:258-63.